

我国原发性肝癌的流行病学特征及精准防控

曹广文

(海军军医大学海军医学系流行病学教研室, 上海 200433)



曹广文, 教授, 博士生导师, 海军军医大学流行病学教研室主任, 生物安全防御教育部重点实验室主任。国家杰青、长江学者、“973”首席科学家、国家重点研发计划首席科学家、国家科技创新2030—重大项目首席专家。担任 *Hepatoma research* 期刊主编。主持国家自然科学基金重点项目、重大研究计划集成项目, 重点国际合作项目等, 以通信作者发表 SCI 论文 158 篇, 其中 39 篇影响因子 10 分以上, 11 篇影响因子 20 分以上, 他引 1.4 万次。主编《癌症进化发育学》等专著 10 部。以第一完成人获得国家自然科学奖二等奖, 教育部自然科学奖一等奖, 上海市科技进步奖一等奖, 军队科技进步奖一等奖 2 项、二等奖 3 项, 国家一级学会科技二等奖 4 项; 获得国家科技进步奖二等奖 2 项和创新团队奖。获得专利授权 22 项。2022 年获吴阶平医药创新奖, 2023 年当选首届上海杰出人才。

摘要 我国原发性肝癌(PLC)的分布特点是南方高于北方, 沿海高于内地, 农村高于城市; 男女比例 3:1。近 20 年来, PLC 一直处于我国恶性肿瘤死亡原因的第二位, 在中年人群(40~65 岁)中年龄标化死亡率超过老年人群(65 岁以上), 在居 65 岁以下男性人群癌症死因第一位。我国 PLC 中肝细胞癌(HCC)和肝内胆管癌(ICC)分别占 93% 和 3%。任何导致慢性肝损伤的因素都是 PLC 的原因, 是 I 级预防的关键。我国 HCC 主要原因是乙型肝炎病毒(HBV)慢性感染, 占 84.4%。约 32% 男性和 9% 女性 HBV 慢性携带者将在 75 岁之前死于 HCC。此外, 黄曲霉素暴露、肝吸虫感染、大量饮酒、代谢综合征和丙肝病毒感染等大大增加了 PLC 风险。乙型肝炎后 HCC 较其它原因导致的 HCC 早发 10 年, 预后更差。界定 PLC 高危人群是 II 级预防的关键。手术切除是早期 PLC 的有效治疗手段, 但术后复发, 术后 5 年生存率约 30%; ICC 术后 5 年生存率 <20%。抗 HBV 治疗不仅可显著降低 HBV 携带者 HCC 的发生风险, 也能显著改善预后。再次手术、放疗、抗血管生成、免疫疗法、免疫和靶向联合治疗、有氧运动等均可明显提升 PLC 的 I~III 级预防的效果。

关键词 原发性肝癌; 乙型肝炎病毒; 危险因素; 病毒进化; 三级预防

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1005-930X(2024)11-1455-09

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.11.002

Epidemiological characteristics and precise prophylaxis and control of primary liver cancer in China

CAO Guangwen. (Department of Epidemiology, Faculty of Navy Medicine, Navy Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract In China, the prevalence of primary liver cancer (PLC) is higher in the South than in the North, higher in the littoral than in the interior, and higher in the rural areas than in the urban areas. Male-to-female ratio of PLC is 3:1. In the past 20 years, PLC has been the second leading cause of cancer-related death; the age-standardized mortality in middle-aged population (40-65 years) has been higher than that in the aged population (older than 65 years); and it has been the first leading cause of cancer-related death in males younger than 65 years old. In China, hepatocellular carcinoma (HCC) and intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) account for 93% and 3% in PLC, respectively. Factors that persistently cause liver damage are the cause of PLC, which are key elements for the prophylaxis of the first grade. The major cause of HCC is persistent infection with hepatitis B virus (HBV), accounting for 84.4% of HCC in China. Approximately, 32% male and 9% female HBV chronic carriers are predicted to die of HCC by 75 years old. In addition, alpha-toxin exposure, infection with *Clonorchis sinensis*, heavy alcohol consumption, metabolic syndrome, and hepatitis C virus infection greatly increase the risk of PLC.

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (No. 82473715); 癌症、心脑血管、呼吸和代谢性疾病防治研究国家科技重大专项 (No. 2023ZD0500100)

[收稿日期] 2024-09-30

HBV-related HCC (HBV-HCC) occurs 10 years earlier than HCC related to other causes and has poorer prognosis. Defining high-risk population of PLC is important for the prophylaxis of the second grade. Surgical resection is effective for the treatment of PLC at early stage; however, PLC is apt to recur postoperatively, with a five-year survival rate of approximately 30% after surgery. The 5-year survival rate after ICC surgery is less than 20%. Anti-HBV treatment not only decreases the occurrence of HCC in HBV-infected subjects significantly, but also greatly improves the postoperative prognosis. Surgery following the recurrence, radiation, anti-angiogenic treatment, immunotherapy, combined immunotherapy with targeted therapy, and aerobic exercise apparently improve the effect of phylaxis of I-III grade of PLC.

Keywords primary liver cancer; hepatitis B virus; risk factor; viral evolution; phylaxis of I-III grade

原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)是起源于肝组织的恶性肿瘤,包括起源于肝细胞的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)、起源于胆管细胞的肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)及两者联合(combined hepatocellular cholangiocarcinoma, CHC)。在全球范围内,HCC、ICC和CHC分别占PLC的75%~85%、10%~15%和0%~10%,在HCC的病因中21%~55%是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)或丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)慢性感染;但在我国大陆地区,HCC、ICC和CHC分别占93.0%、4.3%和1.6%,HBV和HCV感染分别是84.4%和3.2% HCC的病因^[1-2]。因此,全球PLC在不同国家和不同人种中的分布和病因有很大的差异。加强中国各种PLC分子流行病学研究是控制我国PLC总体疾病负担的基础。

1 我国PLC的流行特征和主要危险因素

我国PLC发病和死亡的分布特点是南高北低,沿海高于内地,农村高于城市。国家癌症中心研究结果显示,2000—2011年我国PLC的年龄标化发病率变化曲线与年龄标化死亡率基本一致,均呈下降趋势^[3]。年龄标化发病率下降是针对病因预防的效果;而年龄标化死亡率下降反映了年龄标化发病率下降和临床治疗的效果,可见临床治疗对人群PLC死亡率贡献有限。一级预防,也就是病因预防对降低人群PLC死亡率起到主要作用。实现一级预防的首要条件是阐明可以干预的病因。任何能导致持续性肝组织损伤的因素都是PLC的病因。我国HCC的主要病因是HBV慢性感染,其次为黄曲霉素暴露、大量饮酒、代谢综合征、肝吸虫、HCV感染和吸烟。在HBV感染基础上加以上任何一种危险因素或连同丁型肝炎病毒(hepatitis D virus, HDV)感染将大幅度增加HCC风险;肝吸虫、代谢综合征(肥胖、糖尿病、非酒精脂肪肝)、大量饮酒、HBV和

HCV感染也是ICC的主要危险因素^[4]。这些因素易引起胆管炎,后者引起炎—癌转化。我国PLC的分布特点主要是由于危险因素分布有明显的地区差异性。在我国温暖潮湿地区如江苏启东和广西扶绥等地区,玉米和花生等食物容易生长黄曲霉菌,这些食材及其制品如花生油、玉米油等容易被黄曲霉素污染。在温暖潮湿地区HBV感染率也高,很可能是高密度的蚊虫叮咬,机械携带病毒促进HBV传播^[4]。在婴幼儿时期感染HBV容易造成慢性携带,主要是免疫系统没有发育成熟所致。需要指出的是,在HBV感染的基础上,施加上危险因素如黄曲霉素暴露将大幅度增加PLC的发生风险。

广西地区PLC死亡率最近几年占恶性肿瘤死亡原因首位,主要原因有以下4点:(1)HBV阳性率高。在1992年未接种疫苗人群中,1~10岁儿童HBsAg阳性率为21%,37%被感染过(anti-HBc或anti-HBs阳性);在双亲HBsAg阴性儿童中,16%儿童HBV阳性。受检者中HBsAg阳性率为19%,57%被感染过^[5]。(2)食用淡水鱼生而感染肝吸虫,不仅促进HCC发生,而且促进不良预后^[6]。(3)与地理气候条件和粮食储藏条件有关的食物黄曲霉素污染比较严重^[7]。(4)烟酒嗜好盛行,尤其是含有大量杂醇的自酿米酒,如“公文包”等,对肝脏造成一定的损害。此外,肥胖者占比增加,增加代谢性肝病的促癌风险。以上这些致癌因素在有HBV感染的人群中作用得到大幅度增强。因此,解决我国PLC问题的关键仍然是HBV感染问题。阐明HBV遗传特性和分子病毒学特征有助于确定何种HBV携带者在何种条件下更加容易发生PLC。下面主要论述实现我国乙型肝炎后HCC(HBV-HCC)三级预防面临的关键问题。

2 我国HBV基因组流行特征及其与所致肝病关系

根据HBV基因组序列差异大于8%,将全球流

行的HBV分为A~J等10个基因型。根据基因组差异性介于4%~8%,每个基因型又分为多种亚型。HBV基因型和亚型在全球分布不同,与人类起源、迁徙途径和生存环境对人类免疫系统的影响和选择有关。A型主要分布:A1非洲、A2欧洲、A3~A5西非;B型主要分布:B1日本、B2亚洲其余地区(韩国除外)、B3~B8印度尼西亚、B4越南、B5菲律宾;C型主要分布:C1南亚和南中国粤语人群、C2中国和东北亚、C3印度尼西亚、大洋洲、C4澳大利亚、C5~C8印度尼西亚和菲律宾、C9中国西藏;D型主要分布:D1(主要D型)中东和地中海地区、D2俄罗斯、波罗的海地区和印度、D3印度尼西亚和印度、D4澳大利亚、D5印度、D6印度尼西亚、D7突尼斯;E型主要分布在西非和中部非洲;F型主要在南美和中部美洲地区;G和H型分布在墨西哥和加拿大;I型分布越南和老挝以及我国广西等地;J型在日本发现^[8-9]。为了阐明我国HBV基因型/亚型的流行特征与所致疾病的关系,我们首次建立了快速、联合鉴定在我国流行的HBV基因型和亚型的Multiplex-PCR方法,能一次性对HBV A、B、C、D、E、F 6种基因型和在我国流行的B亚型、C亚型等4种基因亚型进行准确鉴定。与国际上使用的PCR-RFLP等HBV基因型鉴定方法相比,该方法可以高效鉴定两种以上HBV基因型的混合感染^[10]。

2006年,在全国31个省、直辖市和自治区共160个疾病监测点开展HBV流行病学调查证实,我国大陆地区自然人群中HBV感染率为7.18%。HBV基因组流行病学研究揭示了我国HBV主要基因型为C(68.3%)、B(25.5%)、D(1.5%)和混合型(5.7%)。HBV C型分布于全国,但在长江以南地区所占的比例显著低于长江以北地区;HBV B型的分布与C型相反;HBV D主要分布在西北地区。HBV基因亚型主要为C2(58.0%)、B2(27.3%)和C1(10.7%)。HBV C2的比例从黄河以北(82.5%)、黄河和长江之间(66.2%)到长江以南地区(42.1%)逐渐降低;HBV B2和HBV C1的比例与HBV C2相反。HBV B型在年龄小于20岁人群中的比例明显高于大于20岁的人群;HBV C型与B型分布相反。除HBV C1、B2、C2 3种主要亚型外,其他亚型在少数民族中的比例显著高于汉族人群。序列测定和进化分析发现HBV D型主要分布于我国维吾尔族人群(D1:80.8%),但是我国HBV D1中有27.8%并不具备HBV D型特征性的PreS1前区33个碱基缺失,提示我国HBV D型在进化上比在欧洲和中东地区流行的HBV D型古老,很可能是D型HBV的源头。结合历史事件和基因进化分析,我们提出了

HBV D型由中国西部传入中东再传入欧洲的观点。应用全基因组序列测定、Simplot分析和基因进化分析,在全国乙型肝炎基因组流行病学研究中发现了一种在我国西北地区流行一种HBV基因型C的新亚型(C9),Simplot分析提示不支持HBV基因型之间的重组。基因进化分析提示该基因亚型主要源于藏族人群(占67.7%),并向汉族和回族逐渐扩散。HBV B型感染人群中乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)阳性率和平均病毒浓度显著高于HBV C型感染人群,而且这种差异在小于35岁的人群中最为显著,在小于45岁的感染者中,HBV B2的HBeAg阳性率显著高于HBV C1和C2。研究结果提示HBV B2在年轻感染者中复制能力较强,但随着年龄增加较易被清除;HBV C1和C2不易被免疫清除^[11]。我们在上海社区人群中进行了成人急性乙型肝炎危险因素病例对照研究和家庭集聚性研究,揭示了未接种疫苗、有创医疗行为、家庭成员患乙型肝炎和(或)HCC、公共场所修脚和/或美容、外出就餐和公共场所娱乐是急性乙型肝炎的独立危险因素。来自上海社区的无症状HBsAg携带者中HBV B2/HBV C2比率为1:4,而在急性乙型肝炎患者中HBV B2/HBV C2比率接近1:1,提示HBV B2更容易导致急性乙型肝炎。HBV B2的病毒浓度显著高于HBV C2,特别是年龄不超过45岁人群中,HBV B2病毒浓度和HBeAg阳性率均显著高于HBV C2。结合现场流行病学调查和分子进化分析,我们首先提出了HBV B2以异性之间性接触传播为主,而HBV C2以家庭内传播为主的观点。发现成人急性乙型肝炎慢性转化率为8.4%,多因素回归分析发现HBV C2是急性乙型肝炎慢性化的唯一独立危险因素,HBV C2逃避免疫清除转变成慢性化的能力是HBV B2的近7倍^[12]。我们发现了一个重要科学现象:HBV C型在HBeAg阴性社区人群乙型肝炎感染者中是早期肝硬化的独立危险因素。HBV C型在HCC中多见,是HCC发生的独立危险因素,但HBV B2和HBV混合基因型感染与HCC术后复发关系密切^[13]。

通过在华东流行病学现场社区人群中研究HBV基因型和早期肝硬化关系,发现早期肝硬化(超声评级达5分以上)在HBV C型感染者中的患病率显著高于HBV B型感染者。多因素回归分析证明,在HBeAg阴性感染者中,HBV C型、年龄(≥ 45 岁)、男性、血清转氨酶(ALT)异常是肝硬化的独立危险因素。发现无症状HBsAg携带者、慢性活动性乙型肝炎患者和HCC患者的血清HBV DNA浓度和HBeAg血清转换率均随年龄增加而变化,在

HCC患者中HBV C2的HBeAg血清转换率显著低于HBV B2。以HBV C2为基础的混合基因型感染与进展性肝病的发生关系密切,可能的原因是与病毒浓度显著相关;HBV C2在所有HCC患者,尤其是年龄较大的患者中多见,而且常伴有肝硬化;HBV B2在年轻HCC患者中常见、病毒浓度较高而且很少伴有肝硬化。多因素回归分析发现年龄(≥ 40 岁)、男性、病毒浓度($\geq 10^4$ 拷贝/mL)是HCC的独立危险因素。手术切除肿瘤后1年,HBV B2亚型HCC复发/转移的发生频率显著高于HBV C2亚型HCC,而且HCC复发/转移与病毒浓度显著相关;多因素回归分析发现,年龄 ≤ 50 岁和HBV B2感染是HCC复发/转移的独立危险因素。该研究确定了我国两种主要HBV基因亚型在肝硬化和HCC发生/复发中的作用^[14]。该研究提示,45岁以上男性HBV C型感染者在HBeAg血清转换后应注重维护肝功能状态以预防肝硬化;年轻的感染HBV B型的HCC患者术后应积极抗病毒治疗以降低HCC复发。

3 HBV在致癌“三步曲”中的进化规律

3.1 HBV核心启动子和增强子区变异特征 我们用1 000余例来自社区的无症状HBV感染者病毒序列,尤其是HBeAg阳性人群序列确定“野生序列”,并以此为标准确定疾病相关HBV变异。阐明了HBV致癌“三步曲”中各阶段的HBV核心启动子和增强子区变异特征,发现了66种未被报道的HCC相关HBV变异。发现HBV基因型C中C1673T、A1726C、A1727T、C1730G、C1766T、A1762T/G1764A、T1768A、C1773T和C1799G关键变异显著增加肝硬化发病风险;多因素回归发现,年龄、ALT异常、HBV DNA $\geq 10^4$ 拷贝/mL、基因型C、C1653T、T1674C/G、T1753V和A1762T/G1764A是HCC发病的独立危险因素。发现HBV主要变异的单倍型1653C-1674G/C-1753V-1762T/1764A在HCC检出率是非HCC感染者的6.28倍,具有很高的特异性,而且检出频率较高,适用于HCC的预测^[15]。这些研究有助于界定HCC高危人群。

3.2 HBV前S区变异特征 我们发现,不同HBV基因型对变异基因判断有明显差异,这点在HBV PreS区更加明显;分别以无症状HBV感染者、慢性乙型肝炎患者、肝硬化患者和乙型肝炎后HCC患者互为对照,筛查了HBV前S区和部分S区的肝病相关变异,发现PreS1缺失、PreS2缺失以及PreS2起始位点变异在HCC中的频率大幅度高于无症状感染者、慢乙型肝炎和肝硬化患者。HBV中PreS野生型

核苷酸多与肝硬化危险增加有关;而变异型多与HCC发生风险增加有关。多因素回归分析证实,年龄、HBeAg转换、ALT ≥ 45 U/L、代表性野生型T3116C和A2964C是肝硬化风险增高的独立危险因素;年龄、HBV DNA $\geq 10^4$ 拷贝/mL、HBV基因型C、HBV变异包括C2964A、C3116T、C7A、T53C、PreS2起始位点变异、PreS1缺失是HCC发生的独立危险因素^[16],证实了HBV变异在预测HBV致癌“三步曲”中各个肝病节点的优势和可操作性。

3.3 联合HBV变异对HCC发生的预测作用

HCC相关HBV变异较多,应用年龄、性别匹配的病例对照研究揭示了HBV核心启动子和PreS变异对HCC危险性的独立影响,发现HBV基因型C、PreS2启动子变异、C105T、T1753V、A1762T/G1764A等HBV变异是HCC的独立危险因素^[17-18]。我们对HCC特异性较强、检出率较高的HBV变异进行了系统分析,发现PreS缺失、C1653T、T1753V和A1762T/G1764A变异在HBV致癌“三步曲”中各个节点疾病中的发生频率逐渐提高;发现HCC相关的HBV前S区、核心启动子/增强子II的变异在HBV慢性感染发展到HCC的过程中逐渐累加,这些变异及其联合可预测HCC的发生^[19]。HBV标志性疾病变异A1762T/G1764A在HCC发病前10年就可以检测到,联合变异比单位点变异更加显著地增加监测HCC发生的特异性。我们发现在获得HBV感染后,A1762T/G1764A出现较早,PreS缺失、C1653T和T1753V出现较晚^[20]。队列研究发现联合变异可以提前6年预测HCC发生^[21]。因此,我们建立了高危HBV变异的联合检测技术,已经用于HBV感染者发生HCC的监测,用于高危人群界定,为开展HCC二级预防奠定了基础。

3.4 HBV变异对HCC复发的预测作用 我们分析了不同肝组织HBV变异差异,发现HBV进化程度在HCC患者的癌组织、癌旁肝组织和外周血中进化病不同步:在癌组织中因为免疫压力最弱,进化最慢;在外周血中免疫选择最强,HBV进化最快;在癌旁肝组织中HBV的进化程度介于癌组织和外周血之间,癌旁肝组织液是合成HBV最主要场所,“出厂”后HBV经历不同免疫压力微环境进化路线完全不同,导致血清和肿瘤组织中HBV变异种类在预测HCC转移中作用相左。炎症分子反式调控APOBEC3s,促进HBV在复制过程中经历RNA逆转录阶段发生了基因组变异。APOBEC3B相关HBV变异不仅是HCC发生的重要危险因素,经过进化选择,只有驱动癌症发生的HBV变异如A1762T/G1764A在血清中存在才能预测HCC复发

和转移,而在癌组织和癌旁组织中均没有这种效果^[22]。在HBV-HCC复发转移过程中,HBV变异的免疫选择方向倾向于促进癌症转移,应该是肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中免疫功能选择的结果。我们还首次发现,HBV前S区G40C变异能够独立促进HCC不良预后^[23]。这样,HBV进化不仅促进HCC发生,也促进HCC的不良预后,作为HCC发生预测和预后预测和治疗效果的标志,在HBV致癌三级预防中均能发挥指导作用。

4 HBV主要变异基因的促癌分子机制

我们首次应用能够模拟HBV早期感染并整合到宿主基因组的“睡美人转座子(SB)”动物模型进行研究发现,联合变异型HBx基因上调多种“阴性”炎症细胞因子的能力显著高于对应野生HBx,在SB动物模型中致HCC能力和促进转移能力均显著高于野生型;发现HBx携带C1653T+T1674G+A1762T/G1764A联合变异在SB动物肝脏中能够最大限度上调炎症因子表达,促进炎-癌转化作用。变异型HBx主要通过激活纤溶酶原激活抑制因子1(plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1)和细胞分裂周期蛋白(cell division cyclin 20, CDC20)表达,促进HCC恶性转化和干性特征。这些在SB动物模型中的发现被随后的细胞模型及其异种移植动物模型所证实。PAI-1被证明是HCC预后生物学标志和HCC治疗靶标^[24]。同时,我们开展的队列研究还发现C3116T/T31C联合变异频率显著高于PreS2缺失(43.61% vs. 7.16%)。应用体外移植瘤免疫缺陷动物模型发现,转染携带前S区主要联合变异G2950A/G2951A/A2962G/C2964A和C3116T/T31C的大S基因,肿瘤生长迅速。在SB动物模型中发现,具有促癌能力的变异型HBV大S基因比野生型大S基因具有更强的导致HCC和促进HCC转移和致死能力。G2950A/G2951A/A2962G/C2964A和C3116T/T31C两种联合变异在SB动物体内均可以激活炎症调控网络和代谢相关信号通路,诱导内质网应激,影响机体对缺氧的反应,上调IL-6/STAT3信号通路。HBV大S基因通过放大IL-6/STAT3信号通路促进HCC发生和转移^[25]。因为促癌HBV变异和进化也是机体炎症免疫选择的结果,而促癌HBV变异能在体内放大大促癌、促转移“阴性”炎症信号通路。这样,HBV进化通过“野生HBV—免疫选择—变异HBV—诱发炎症—致癌”放大大致癌炎症作用方面,促进HCC的进化发育。

5 HBV进化的驱动力—遗传决定的炎症免疫机制

用全基因组关联分析,发现了HBV-HCC新易感位点:STAT4基因rs7574865和Ⅱ类人白细胞抗原HLA-DQ rs9275319位点。STAT4重要转录因子和免疫反应关键调节因子,传递来自白细胞介素IL-12和I型干扰素(IFN- α 或IFN- β)以诱导IFN- γ 。影响STAT4表达的rs7574865 G等位基因显著增加HCC发病危险。STAT4在癌组织中表达水平显著低于癌旁肝组织,携带rs7574865 GG基因型者STAT4的表达水平均显著低于TT基因型者^[26];发现染色体16q22.1的PRMT7编码基因内含子区存在一个HCC高危位点rs73613962,该位点具有等位基因特异性增强子活性,通过转录因子HNF4A结合到该区域,促进PRMT7表达,通过P53通路影响HCC易感性^[27];发现中国人HLA-Ⅱ抗原基因(HLA-DR、HLA-DP、HLA-DQ)先天遗传多态性的少见基因型与HBV感染慢性化呈显著负相关,中国人常见等位基因促进感染慢性化和病毒变异的免疫选择,最后HBV更加容易在中国人群中导致HCC。我们发现中国人与欧洲白人两大人群在的主要基因型和少见基因型之间发生互换:促进HBV慢性化的遗传位点(HLA-DQ、HLA-DP、HLA-DR以及NFKBIA遗传位点)在中国人基因组中属于主要基因型,而在欧洲人中属于少见基因型,反之亦然^[28-30];阐明了HBV致癌过程中关键炎症信号网络中NF- κ B途径的NF- κ B1和I κ B基因启动子单核苷酸多态性及其单倍型是感染HBV C2型患者发生HCC的主要危险因素,NF- κ B通路的关键分子I κ B基因NFKBIA -881(rs13138053, A>G)促进慢性炎症和炎—癌转化过程^[31]。这一发现至少从免疫遗传易感性的角度揭示了为什么我们中国人更加容易发生HBV慢性感染(占全球1/3)和更加容易致HCC(占全球1/2)。我们还发现,NF- κ B、STAT3等HBV致癌通路中主要炎症通路的遗传多态性与HBV促癌变异在HCC和肝硬化形成中具有明显的交互作用^[32-33]。免疫遗传因素通过调控免疫/炎症分子的表达,影响炎症—免疫功能,导致HBV感染后易形成慢性活动性肝炎,进而促进HCC的进化发育。

6 APOBEC3B和UNG平衡失调在HBV-HCC中的作用

免疫基因遗传特性与环境因素交互作用促进形成并维持了慢性炎症微环境,后者为HBV突变和

肝脏体细胞突变后的选择提供了原动力。APOBEC3s与UNG之间的平衡失调是HBV基因组和宿主细胞基因组体细胞突变的核心驱动因素之一。APOBEC3B启动子功能多态位点rs2267401促进高危HBV变异的生成,增强APOBEC3B表达的等位基因与降低UNG增强子功能的等位基因交互作用显著促进HCC的发生和不良预后。慢性炎症分子IL-6等反式激活APOBEC3B表达,降低UNG表达,导致APOBEC3B-UNG之间的平衡失调,促进体细胞驱动变异和HBV变异,肿瘤炎症—免疫微环境对变异细胞和病毒进行选择,进而促进HCC“变异—选择—适应”的进化过程^[34]。这一机制的发现进一步支撑了“癌症进化发育学”的理论基础。APOBEC3s-UNG的失衡不仅在HBV致癌过程中起重要作用,而且该平衡失调在其他肿瘤如胆囊癌和胆管癌、肾细胞癌中得到了进一步验证。APOBEC3B启动子遗传位点rs2267401-G降低胆管癌的发病风险,但是增加胆囊癌的发病风险,主要原因是转录抑制因子TFAP2A在胆管癌中高表达,TNF α 通过抑制TFAP2A,提高APOBEC3B表达水平;APOBEC3A启动子遗传易感位点rs12157810-C降低了胆管癌和胆囊癌的发病风险,主要原因是TNF α 提高了转录因子Ets-1p68与携带rs12157810-C等位基因APOBEC3A启动子的结合力,促进APOBEC3A过度表达。APOBEC3A致突变能力高于APOBEC3B近1 000倍,APOBEC3A高表达直接导致宿主细胞核酸发生大范围断裂,诱发细胞凋亡,反而降低了癌症风险^[35]。在肾细胞癌中也有类似的发现^[36]。因此,APOBEC3A/APOBEC3B启动子遗传易感性通过与组织细胞固有的特异性转录因子相互作用调控了在炎症环境下癌症的进化方向。为了确定体细胞变异后促癌途径,我们应用类器官技术分析了免疫微环境在HCC、ICC和CHC的干性选择中的作用机制,发现肿瘤组织中癌细胞干性特征决定了类器官培养的成功率^[37]。干性特征不仅了HCC、结直肠癌等恶性肿瘤相关表达谱,发现了炎症通过调控APOBECs驱动突变,促进癌症干性化信号通路和肿瘤特异性蛋白表达调控机制^[38]。这些肿瘤生长抑制基因异常的调控方式是治疗肿瘤的切入点。

基于以上研究,我提出了“癌症进化发育学”理论。该理论核心是慢性炎症促进APOBEC3s等促进变异与UNG等变异修复力量之间的平衡失调,导致病毒和细胞在炎症微环境作用下发生“变异—选择—适应”进化过程,导致肿瘤细胞激活了关键的炎症相关细胞信号通路,获得了逆向发育能力,使细胞具备无限繁殖等干性特征,表达了在胚胎时期

表达的蛋白质。在“阴性”炎症条件下,促炎介质能够反式激活胞苷脱氨酶表达,后者不仅促进HBV变异,而且促进宿主体细胞基因组变异。HCC相关HBV变异具有促进HCC恶性表型的功能。体细胞变异导致肝细胞绝大部分被淘汰,只有很少部分细胞通过HBV变异、体细胞变异和表观遗传修饰如组蛋白乙酰化和非编码RNA等机制,激活了关键的炎症相关细胞信号通路,获得了“逆向分化”和EMT的机会,使细胞具备掠夺营养、无限繁殖等“干”样能力,表达了只有在胚胎时期的表达的蛋白质,如甲胎蛋白(AFP)在HCC中高表达等。整个HBV促进HCC进化发育过程中,无论病毒变异还是宿主基因组变异,均存在一个“变异—选择—适应”的进化过程,但是HBV致癌进化是一个“逆向进化”过程^[39-40]。在“癌症进化发育学”理论体系中,阴性炎症因子反式激活胞苷脱氨酶,打破促进变异和变异修复之间的平衡起核心作用。HBV致癌过程中核心信号通路可发展成监测癌症进化的生物标志,也可能从中选择用于癌症靶向治疗的重要分子靶标。

7 HBV-HCC发生和复发转移的特异防治技术体系

7.1 抗病毒治疗可选择性预防高危HBV感染人群HCC的发生 应用慢性乙型肝炎患者平均随访10年的前瞻性队列研究中发现,男性、年龄、肝硬化和携带A1762T/G1764A、C1653T、T1753V等HBV变异是HCC发生和死亡的独立危险因素,而抗病毒治疗是独立保护因素。建立了提前6年预知HBV-HCC发生的指标体系(软件著作权2020SR1822659)。发现preS区G2950A/G2951A/A2962G/C2964A和C3116T/T31C联合变异显著增加癌症风险,而且这种风险可以被抗病毒治疗所化解,在有肝硬化的HBV感染者中,应用核苷类似物治疗至少5年才能显著降低HCC的发生。在携带preS2缺失HBV感染者中,抗病毒治疗不能降低HCC发生风险。抗病毒治疗3~5年总体上可使高危HBV感染者的HCC发病率降低了78.0%,可避免我国1 000万HBV感染者在75岁之前死于HCC^[21,25],为在HBV-HCC特异性预防奠定了基础。

7.2 circKCNN2和circGLS2等内在因素抵抗HCC复发转移 我们从HBV-HCC患者研究队列中选取HCC复发的肿瘤组织样本,分别采用高通量RNA测序、miRNA测序和circRNA测序,发现了59 711个circRNA序列,其中有55 752个circRNA序列在CircAtlas database中有注释。将得到的3 959个新

的 circRNA 序列进行生物信息学富集分析,发现了与复发及预后显著相关的 circRNA,并对其中两种最重要的 circRNA (circKCNN2、circGLS2)进行了实验验证和样本队列验证。结果显示,肿瘤组织中 circKCNN2 高表达提示患者复发风险降低,在 HCC 细胞系中过表达 circKCNN2 可以显著抑制 HCC 细胞的增殖、迁移、侵袭、克隆形成和体内成瘤能力。发现 circKCNN2 的上游转录调控抑制因子 NFYA 和下游效应分子 miR-520c-3p、MBD2 和 FGFR4,证明 circKCNN2 通过吸附 miR-520c-3p 而上调 MBD2 表达以抑制 HCC 恶性表型。利用 HCC 细胞系和类器官研究发现短期的 circKCNN2 过表达通过抑制 FGFR4 与乐伐替尼产生协同抗肿瘤效果^[41-42]。该研究为 HBV-HCC 复发等三级预防提供了新的干预手段。

7.3 建立了 HCC 等肿瘤特异性基因治疗创新技术

应用甲胎蛋白(AFP)和白蛋白等 HCC 和肝组织特异性表达分子的基因转录调控序列(启动子和增强子)调控抗癌因子基因,经重组逆转录病毒载体能够在 HCC 组织中特异表达外源基因,其中免疫调控因子在肿瘤组织中特异性表达显著改善肿瘤免疫微环境,发挥抗肿瘤作用的同时避免对正常骨髓组织等正常组织的损害^[43-44]。该研究为以 HCC 为基础的癌症特异性防治提供了有效的、特异性新措施,也是针对肝癌微环境开展靶向治疗的有益尝试。

7.4 建立了 HBV-HCC 术后复发的预测指标体系和特异性预防措施 应用我们建立的 HBV 后 HCC 术后随访队列研究发现,肿瘤直径>3 cm、肿瘤包膜不完整、卫星病灶多、有微小血管浸润、肿瘤分化程度低、巴塞罗那分期较晚、 α -谷氨酰胺转氨酶高、病毒浓度 $>10^4$ 拷贝/mL 是 HCC 术后复发和死亡的独立危险因素;而抗 HBV 治疗是 HCC 术后复发和死亡的唯一独立保护因素。然后开展标准随机对照临床试验研究,经多因素 Cox 等比例伤害模型分析证实应用核苷类似物进行标准抗病毒治疗显著降低 HBV-HCC 术后复发($HR=0.41$, 95% CI : 0.32~0.70),延长 HCC 相关死亡($HR=0.26$, 95% CI : 0.14~0.50)。更重要的是抗病毒治疗可以显著降低 HCC 术后 2 年内死亡($HR=0.41$, 95% CI : 0.27~0.62),而且可以显著改善 HBV-HCC 患者术后 6 个月的肝功能,促进术后残肝大小和功能的迅速恢复。从整体上来说,特异性抗病毒治疗使术后 4 年生存率提高了 82.3%。但是,对于在残肝的基因组中整合了 3' 截断型 HBV 的 X 基因(Ct-HBx)的患者,抗病毒治疗没有以上效果^[45]。这一发现推动了

HBV-HCC 术后抗病毒治疗进入临床指南,并提出一个新问题:残肝基因组中整合了 Ct-HBx 促进复发转移,对 Ct-HBx 整合的患者进行特异性剪接残肝基因组中 Ct-HBx 或开展特异性基因治疗才能解决这一问题。

7.5 其他新颖的有效 PLC 三级预防措施 第 2 次手术切除和放疗对 HCC 的疗效:我们在 HBV-HCC 预后队列研究中发现复发再次手术切除和放疗对 HCC 有明显的疗效^[2]。癌症依赖不同营养因子而差异化生长。通过饮食改变抑制肿瘤微环境中营养需求,增加干扰肿瘤代谢营养物质,可以显著增强抗肿瘤药物的敏感性^[46]。通过饮食调整肠道菌群,同样可以增强免疫治疗的疗效。食用低纤维素、低 omega-3 脂肪酸者增加全身炎症水平,与免疫治疗抵抗有关,通过饮食调节肠道菌群,可以增强免疫治疗的疗效^[47]。免疫检查点抑制剂如 PD-1、PD-L1 抗体,CTLA4 抗体,联合抗酪氨酸酶抑制剂、抗血管生成药物、化疗药物,外加局部的治疗对晚期 HCC 有可期待的疗效^[48]。其中有多种药物组合目前正在临床研究中。

体育运动对 HCC 有明确的防控作用。运动不仅可以显著预防癌症的发生,而且对所有类型的癌症相关死亡均有明确保护作用^[49]。体育运动能有效改善胰岛素耐受,促进肝脂肪酸代谢、大幅度降低慢性炎症,进而破坏癌症进化发育的土壤,对肝脏健康大有裨益。其中大量证据已经提示,体育运动对 PLC 特别是 HCC 的发生有明显的抑制作用,可以使整体 PLC 发病率降低 20% 以上。每周 7.5~15 h 空余时间体育运动能够降低 18%~27% 的 PLC 发生风险。Meta 分析提示中等强度运动可以降低 23% 的 HCC 发生风险和 19% 的 HCC 死亡风险^[50]。因此,体育运动尤其是有氧运动对 PLC 的防治效果不亚于任何一种以药物为主的防控措施。积极有效的联合药物开展临床治疗,结合跑步和游泳等有氧运动等公共卫生措施,对 HCC 三级预防有重要意义。

参考文献:

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: global estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA a cancer journal for clinicians, 2024,74(3):229-263.
- [2] LIN J, ZHANG H, YU H, et al. Epidemiological characteristics of primary liver cancer in mainland China from 2003 to 2020: a representative multicenter study[J]. Frontiers in oncology, 2022,21(12):906778.

- [3] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA a cancer journal for clinicians, 2016, 66(2):115-132.
- [4] ZHENG Y, LIU D, FENG D, et al. An animal study on transmission of hepatitis B virus through mosquitoes[J]. Chinese medical journal, 1995, 108(12):895-897.
- [5] ZHUO J, TAO G, EBRAHIM S H, et al. The relationship of hepatitis B virus infection between adults and their children in Guangxi province, China[J]. Journal of hepatology, 2000, 33(4):628-631.
- [6] LI Y K, ZHAO J F, YANG C L, et al. Effects of clonorchis sinensis combined with hepatitis B virus infection on the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma following hepatectomy[J]. PLoS neglected tropical diseases, 2023, 13;17(1):e0011012.
- [7] WANG X Y, HUANG J M, LU X M, et al. Changing risk factors for hepatocellular carcinoma in hyperendemic regions in the era of universal hepatitis B vaccination[J]. Cancer epidemiol, 2020, 67:101775.
- [8] CAO G W. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations[J]. World journal of gastroenterology, 2009, 15(46):5761-5769.
- [9] JIA H H, CHEN Q Y, JIANG Z H, et al. A novel subgenotype I3 of hepatitis B virus in Guangxi, China: a 15-year follow-up study[J]. Virus genes, 2023, 59(3):359-369.
- [10] CHEN J, YIN J, TAN X, et al. Improved multiplex-PCR to identify hepatitis B virus genotypes A-F and subgenotypes B1, B2, C1 and C2[J]. Journal of clinical virology, 2007, 38(3):238-243.
- [11] YIN J, ZHANG H, HE Y, et al. Distribution and hepatocellular carcinoma-related viral properties of hepatitis B virus genotypes in mainland China: a community-based study[J]. Cancer epidemiol biomarkers & prev, 2010, 19(3):777-786.
- [12] ZHANG H W, YIN J H, LI Y T, et al. Risk factors for acute hepatitis B and its progression to chronic hepatitis in Shanghai, China[J]. Gut, 2008, 57(12):1713-1720.
- [13] YIN J, ZHANG H, LI C, et al. Role of hepatitis B virus genotype mixture, subgenotypes C2 and B2 on hepatocellular carcinoma: compared with chronic hepatitis B and asymptomatic carrier state in the same area[J]. Carcinogenesis, 2008, 29(9):1685-1691.
- [14] YIN J H, ZHAO J, ZHANG H W, et al. HBV genotype C is independently associated with cirrhosis in community-based population[J]. World journal of gastroenterology, 2010, 16(3):379-383.
- [15] YIN J, XIE J, LIU S, et al. Association between the various mutations in viral core promoter region to different stages of hepatitis B, ranging of asymptomatic carrier state to hepatocellular carcinoma[J]. The American journal of gastroenterology, 2011, 106(1):81-92.
- [16] YIN J, XIE J, ZHANG H, et al. Significant association of different preS mutations with hepatitis B-related cirrhosis or hepatocellular carcinoma[J]. Journal of gastroenterology, 2010, 45(10):1063-1071.
- [17] LIU S, XIE J, YIN J, et al. A matched case-control study of hepatitis B virus mutations in the preS and core promoter regions associated independently with hepatocellular carcinoma[J]. Journal of medical virology, 2011, 83(1):45-53.
- [18] XIE J X, ZHAO J, YIN J H, et al. Association of novel mutations and haplotypes in the preS region of hepatitis B virus with hepatocellular carcinoma[J]. Frontiers of medicine in China, 2010, 4(4):419-429.
- [19] LIU S, ZHANG H, GU C, et al. Associations between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. Journal of the national cancer institute, 2009, 101(15):1066-1082.
- [20] LI Z, XIE Z, NI H, et al. Mother-to-child transmission of hepatitis B virus: evolution of hepatocellular carcinoma-related viral mutations in the post-immunization era[J]. Journal of clinical virology, 2014, 61(1):47-54.
- [21] YIN J, WANG J, PU R, et al. Hepatitis B virus combo mutations improve the prediction and active prophylaxis of hepatocellular carcinoma: a clinic-Based cohort study[J]. Cancer prevention research (Philadelphia, Pa.), 2015, 8(10):978-988.
- [22] YIN J, CHEN X, LI N, et al. Compartmentalized evolution of hepatitis B virus contributes differently to the prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. Carcinogenesis, 2021, 42(3):461-470.
- [23] CHEN X, ZHANG M, LI N, et al. Nucleotide variants in hepatitis B virus preS region predict the recurrence of hepatocellular carcinoma[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(18):22256-22275.
- [24] PU R, LIU W, ZHOU X, et al. The effects and underlying mechanisms of hepatitis B virus X gene mutants on the development of hepatocellular carcinoma[J]. Frontiers in oncology, 2022, 10(12):836517.
- [25] LIU W, CAI S, PU R, et al. HBV preS Mutations Promote Hepatocarcinogenesis by Inducing Endoplasmic Reticulum Stress and Upregulating Inflammatory Signaling[J]. Cancers, 2022, 14(13):3274.
- [26] JIANG D K, SUN J, CAO G, et al. Genetic variants in STAT4 and HLA-DQ genes confer risk of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. Nature genetics, 2013, 45(1):72-75.
- [27] SHEN T, NI T, CHEN J, et al. An enhancer variant at 16q22.1 predisposes to hepatocellular carcinoma via regulating PRMT7 expression[J]. Nature Communications, 2022, 13(1):1232.
- [28] ZHANG Q, YIN J, ZHANG Y, et al. HLA-DP polymor-

- phisms affect the outcomes of chronic hepatitis B virus infections, possibly through interacting with viral mutations [J]. *Journal of virology*, 2013, 87(22):12176-12186.
- [29] SONG J, YANG F, WANG S, et al. Efficacy and safety of antiviral treatment on blocking the mother-to-child transmission of hepatitis B virus: A meta-analysis[J]. *Journal of viral hepatitis*, 2019, 26(3):397-406.
- [30] JI X, ZHANG Q, LI B, et al. Impacts of human leukocyte antigen DQ genetic polymorphisms and their interactions with hepatitis B virus mutations on the risks of viral persistence, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma[J]. *Infection genetics and evolution*, 2014, 28:201-209.
- [31] HE Y, ZHANG H, YIN J, et al. IkappaBalpha gene promoter polymorphisms are associated with hepatocarcinogenesis in patients infected with hepatitis B virus genotype C[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(11):1916-1922.
- [32] ZHANG Q, JI X W, HOU X M, et al. Effect of functional nuclear factor-kappaB genetic polymorphisms on hepatitis B virus persistence and their interactions with viral mutations on the risk of hepatocellular carcinoma[J]. *Annals of oncology*, 2014, 25(12):2413-2419.
- [33] XIE J, ZHANG Y, ZHANG Q, et al. Interaction of signal transducer and activator of transcription 3 polymorphisms with hepatitis B virus mutations in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology international*, 2013, 57(6):2369-2377.
- [34] LIU W, WU J, YANG F, et al. Genetic polymorphisms predisposing the interleukin 6-induced APOBEC3B-UNG imbalance increase HCC risk via promoting the generation of APOBEC-signature HBV mutations[J]. *Clinical cancer research*, 2019, 25(18):5525-5536.
- [35] LIU W, JI H, ZHAO J, et al. Transcriptional repression and apoptosis influence the effect of APOBEC3A/3B functional polymorphisms on biliary tract cancer risk[J]. *International journal of cancer*, 2022, 150(11):1825-1837.
- [36] TAN X, ZHENG S, LIU W, et al. Effect of APOBEC3A functional polymorphism on renal cell carcinoma is influenced by tumor necrosis factor- α and transcriptional repressor ETS1[J]. *American journal of cancer research*, 2021, 11(9):4347-4363.
- [37] XIAN L, ZHAO P, CHEN X, et al. Heterogeneity, inherent and acquired drug resistance in patient-derived organoid models of primary liver cancer[J]. *Cellular oncology (Dordr)*, 2022, 45(5):1019-1036.
- [38] CHANG W, GAO X, HAN Y, et al. Gene expression profiling-derived immunohistochemistry signature with high prognostic value in colorectal carcinoma[J]. *An international journal of gastroenterology ang hepatology*, 2014, 63(9):1457-1467.
- [39] LIU W, DENG Y, LI Z, et al. Cancer Evo-Dev: A theory of inflammation-induced oncogenesis[J]. *Frontiers in immunology*, 2021, 22(12):768098.
- [40] LIU W B, WU J F, DU Y, et al. Cancer evolution-development: experience of hepatitis B virus-induced hepatocarcinogenesis[J]. *Current oncology*, 2016, 23(1):e49-56.
- [41] CHEN X, WU T, XIAN L, et al. CircGLS2 inhibits hepatocellular carcinoma recurrence via regulating hsa-miR-222-3p-PTEN-AKT signaling[J]. *Signal transduction and targeted therapy*, 2023, 8(1):67.
- [42] LIU D, LIU W, CHEN X, et al. CircKCNN2 suppresses the recurrence of hepatocellular carcinoma at least partially via regulating miR-520c-3p/methyl-DNA-binding domain protein 2 axis[J]. *Clinical and translation medicine*, 2022, 12(1):e662.
- [43] CAO G, KURIYAMA S, DU P, et al. Complete regression of established murine hepatocellular carcinoma by in vivo tumor necrosis factor alpha gene transfer[J]. *World journal of gastroenterology*, 1997, 112(2):501-510.
- [44] CAO G, KURIYAMA S, GAO J, et al. Gene therapy for hepatocellular carcinoma based on tumour-selective suicide gene expression using the alpha-fetoprotein (AFP) enhancer and a housekeeping gene promoter[J]. *European journal of cancer*, 2001, 37(1):140-147.
- [45] YIN J, LI N, HAN Y, et al. Effect of antiviral treatment with nucleotide/nucleoside analogs on postoperative prognosis of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: a two-stage longitudinal clinical study[J]. *Journal of clinical oncology*, 2013, 31(29):3647-3655.
- [46] KANAREK N, PETROVA B, SABATINI D M. Dietary modifications for enhanced cancer therapy[J]. *Nature-international journal of science*, 2020, 579(7800):507-517.
- [47] SIMPSON R C, SHANAHAN E R, BATTEN M, et al. Diet-driven microbial ecology underpins associations between cancer immunotherapy outcomes and the gut microbiome[J]. *Nature medicine*, 2022, 28(11):2344-2352.
- [48] HAO L, LI S, YE F, et al. The current status and future of targeted-immune combination for hepatocellular carcinoma[J]. *Frontiers in immunology*, 2024, 15:1418965.
- [49] LAVERY J A, BOUTRES P C, KNIGHT D, et al. Association of exercise with pan-cancer incidence and overall survival[J]. *Cancer Cell*, 2024, 42(2):169-171.
- [50] ZHANG Y, CAO C, LI C, et al. Physical exercise in liver diseases[J]. *Hepatology*, 2024, doi: 10.1097/HEP.0000000000000941.

本文引用格式:

曹广文.我国原发性肝癌的流行病学特征及精准防控[J]. *广西医科大学学报*, 2024, 41(11): 1455-1463. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.11.002

CAO G W. Epidemiological characteristics and precise prophylaxis and control of primary liver cancer in China [J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2024, 41(11): 1455-1463. DOI: 10.16190/j.cnki. 45-1211/r.2024.11.002